

## Some Biochemical Parameters And Histological Changes caused by sun set Yellow overload in Neuzland male rabbits.

### بعض التغيرات الكيميوحيوية والنسجية المتسببة عن فرط اعطاء اصفر غروب الشمس (Sun Set Yellow) في ذكور الأرانب النيوزلندية.

البازي, وفاق جبوري و حسين علي عبد اللطيف و البازي, سينا جوري  
و الجابري, منال عبد محمد الجابري.  
جامعة كربلاء / كلية التربية

#### الخلاصة Summary

قسمت 10 ارانب نيوزلندية عشوائيا الى مجموعتين الأولى أعطيت ماء الشرب الاعتيادي واعتبرت كمجموعة سيطرة (T1) والثانية أعطيت مادة اصفر غروب الشمس Sun Set Yellow وبتركيز 0.05 ملغم /وج يوميا في ماء الشرب ولمدة 12 أسبوع , وبعد جمع عينات الدم بعد تجويع الحيوانات كل 4 اسابيع واجراء بعض الفحوصات المختبرية اللازمة في مصل دم الارانب لوحظ وجود زيادة معنوية عند مستوى معنوية ( $P<0.05$ ) في مستوى الكولسترول الكلي Total cholesterol (TC) وثلاثي الكليسيريديات Triacylglycerol (TAG) والشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة Low Density Lipoprotein- Cholesterol (LDL-C) والواطنة جدا Very Low Density Lipoprotein- Cholesterol (VLDL-C) وفي فعالية انزيمي الكبد Alanin Transaminase (ALT) و Aspartat Transaminase (AST) مع ملاحظة انخفاض معنوي عند مستوى معنوية ( $P<0.05$ ) في مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية High Density Lipoprotein- Cholesterol (HDL-C) فضلا عن ذلك اظهر الفحص النسيجي إلى ان فرط أعطاء اصفر غروب الشمس Sun set yellow اظهر ارتشاح في الخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية في الكبد .

#### Summary

Ten male rabbits were divided into two groups (5/group) , the first group was intubated with tap water and served as control group . Rabbits in the second group were intubated orally with 0.05 mg /kg B.W daily for 12 weeks . Fasting blood samples were collected after each 4 weeks of experiment for measuring some libratory tests in serum of bloods rabbits . The result of this study showed a significant ( $P<0.05$ ) increase in Total cholesterol (TC) , Triacylglycerol (TAG) , Low density lipoprotein –cholesterol (LDL-C) and Very Low density lipoprotein – cholesterol (VLDL-C) and AST , ALT activities with significant ( $P<0.05$ ) decrease in High density lipoprotein (HDL-C) and also histological examination showed inflammatory infiltration in the liver section .

#### المقدمة Introduction

تعتبر الاضافات الغذائية من المواد الكيمباوية سواء كانت صناعية او طبيعية تضاف للأطعمة او الأدوية وهذه المواد تعتبر مواد غريبة للجسم والتي تضاف كمواد مانعة للتزنخ او حافظة من التلوث وعوامل الفساد الحيوية و الكيميائية بالاضافة الى انها منكهة او ملونة لتغري المستهلك على شرائها ( 1 ) .  
ان الاضافات الغذائية عديدة من ضمنها اصفر غروب الشمس (E110 sun set yellow) والتي تعتبر مادة ملونة للغذاء وينتشر استخدامها في العصائر والحلويات والأدوية وغيرها ( 2 )  
يعتبر اصفر غروب الشمس مادة كيميائية مصنوعة من قطران الفحم يتواجد بشكل مسحوق اصفر الى برتقالي اللون يذوب في الماء وحامض الكبريتيك المركز ويذوب في الكحول بشكل خفيف ( 3 ) يضاف للغذاء لغرض التلوين مثل منتجات المخابز , العصائر , الزبد , الجبن , الايس كريم , الحلويات , الشوكلاتة , الشوربة المعلبة , مربى المشمش والمخللات ( 4 ) .

لقد وضعت منظمة الصحة العالمية جداول ثابتة بمقدار تراكيز هذه المواد المضافة ولاننفي اهميتها ولكن تناولها بافراط يشكل خطورة على صحة المستهلك وهذه الخطورة تتحدد بعاملين هما تركيزها في المادة الغذائية والتي يجب ان لا تتجاوز عن الحد المسموح به دوليا والعامل الاخر هو الحد الاقصى لتناولها وهذا يتوقف على مقدار مايتناوله المستهلك من الاغذية المحتوية على هذه المواد الكيميائية (5) .

لقد أشارت بعض الدراسات الى ان الإفراط في تناول صبغة اصفر غروب الشمس يسبب فرط الحساسية في الجرذان (6) والاضطرابات المعدية والمعوية (7) ونظرا لانتشار استخدام الاطعمة المعلبة والعصائر بانواعها والوانها المختلفة في الاسواق المحلية والتي تتميز بوضع قائمة طويلة من المضافات الغذائية دون وضع تراكيزها , ولرخص ثمن بعض مساحيق العصائر المنتشرة في الأسواق المحلية لذا جاءت الدراسة الحالية لتبين تاثير الافراط في تناول هذه المواد الغذائية على بعض وظائف الكبد من خلال قياس مستوى فعالية انزيمي الكبد ALT و AST وكذلك قياس مستوى الكوليستيرول TC الكلي والكليسيريدات الثلاثية TAG ومستوى الشحوم البروتينية Lipoproteins بالإضافة للفحص النسيجي لمقاطع من الكبد.

## المواد وطرائق العمل Material and Methods

قسمت 10 حيوانات عشوائيا الى مجموعتين (5 /مجموعة) و عولمت لمدة 12 اسبوع اعطيت المجموعة الاولى (T1) ماء الشرب الاعتيادي واعتبرت كمجموعة سيطرة بينما اعطيت المجموعة الثانية (T2) اصفر غروب الشمس sun set yellow وبتركيز 0.05 ملغم /كغم من وزن الجسم يوميا في ماء الشرب (6) .

جمعت عينات الدم من القلب مباشرة كل 4 اسابيع من اجراء التجربة بعبوات جمع عينات الدم الخالية من مانع التخثر , وبعد فصل مصل الدم بجهاز الطرد المركزي (3000) دورة في الدقيقة ثم قياس مستوى الكوليستيرول الكلي (TC) باستخدام عدة kits وقياس الكليسيريدات الثلاثية (TAG) . وقياس مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية (HDL-C) باستخدام عدة (kits) خاصة مصنعة من قبل شركة (Bicon, Germany), واستخدام جهاز ال spectrophotometer وعند مستوى امتصاصية 500nm, كما تم قياس مستوى الشحوم البيروتينية ذات الكثافة الواطئة (LDL-C) في مصل الدم باستخدام المعادلة :-  $TC = TAG/5 + HDL + LDL$  وقياس مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا (VLDL) باستخدام المعادلة (VLDL = TAG/5) (8) وباستخدام (kit) خاص مصنع من شركة (Randox, U.K) لقياس مستوى فعالية انزيمي (ALT) Alanine transaminase و Aspartate transaminase (AST) , وفي نهاية التجربة تم تشريح الحيوانات واخذت مقاطع من الكبد وحفظت في محلول الفورمالين (10%) ولمدة 48 ساعة واجراء التقطيع النسيجي حسب طريقة (9).

**التحليل الاحصائي :-** اخضعت البيانات الى التحليل الاحصائي باستخدام تحليل التثائي ( Tow way analysis of variance ) لمقارنة المعايير بين السيطرة والمعاملات واعتبرت الفروقات المعنوية بمستوى (P<0.05) (10)

## النتائج والمناقشة Result and Discussion

بينت الدراسة الحالية الى حصول خلل في وظائف الكبد من خلال الزيادة المعنوية عند مستوى معنوية (P<0.05) في مستوى الكوليستيرول (TC) الكلي والكليسيريدات الثلاثية (TAG) ومستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة (LDL-C) والواطئة جدا (VLDL-C) مع الانخفاض المعنوي (P<0.05) في مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية (HDL-C) جدول (1و2) دلالة على حصول حالة فرط شحوم الدم (hyperlipidemia) بالإضافة الى الزيادة المعنوية (P<0.05) في فعالية انزيمي (ALT,AST) في مصل دم ذكور الارانب ( جدول 3) , و الصورة (2) تبين وجود ارتشاح التهابي حول الوريد المركزي ضمن متن الكبد صورة (3) .

ان حصول حالة Hyperlipidemia والزيادة في فعالية الانزيمات للدراسة الحالية جاءت مقارنة لما توصل اليه بعض الباحثين نتيجة للاخذ المفرط للمضافات او الملونات الغذائية (6,11) في الجرذان والذي قد يعود السبب الى انتقال هذه المواد مباشرة من الامعاء الى الكبد من خلال الدورة البابية الكبدية وتراكمها وبالتالي تاثيرها على وظائف الكبد المهمة مثل عمليات الازالة السمية (detoxification) وبالتالي حصول تحطم في خلايا الكبد وخروج محتويات الساييتوبلازم لمجرى الدم مثل انزيمي (ALT,AST). او قد تسبب المواد الغريبة التي تضاف للمواد الغذائية كمادة ملونة , منكهة او حافظة والتي تدخل الجسم قد يزيد من عملية تصنيع HMG-COA reductase وهو الانزيم المنظم لتصنيع الكوليستيرول والذي يعمل على تحويل Hydroxyl Methylglutaryl –COA الى mevalonic acid وبالتالي يزيد من صناعة الكوليستيرول (12) ونتيجة لذلك تزداد عملية تصنيع الكوليستيرول وزيادة امتصاصه من الامعاء وكبح عملية طرحه excretion في الامعاء (13).

كما اشارت الكثير من الدراسات ان فرط اعطاء المضافات الغذائية قد تسبب طفرة في مستقبلات LDL على جدار الخلايا وبالتالي قلة تصفية LDL-C VLDL-C او التقاطها من الدورة الدموية (14) ومن ثم زيادة مستوياتها في الدم , كما ان الاعطاء المفرط للمضافات الغذائية وهي مواد غريبة عن الجسم تسبب حالات مرضية عديدة منها تشحم الكبد (15) وتحطم للغشاء الخلوي لكريات الدم الحمراء (16) والتي تسبب تراكم للحديد في خلايا الكبد .

ان توصيات الدراسة الحالية تتضمن بضرورة تجنب او تقليل من تناول الاغذية المعلبة والعصائر واستبدالها بالاغذية والخضروات والفواكه الطازجة لخلوها من تلك المواد الغريبة الضارة للجسم واحتوائها على الفيتامينات والمعادن الضرورية للصحة

جدول (1) يبين تأثير إضافة مادة اصفر غروب الشمس إلى ماء الشرب في مستوى الكوليسترول الكلي(TC) (mg/dl) في مصل دم الأرناب.

After 12weeks	After 8 weeks	After 4weeks		Time Treatment
131.1 ±0.98Aa	129.8 ±1.5Aa	130 ±0.66Aa	T1	Total cholesterol (TC)
279 ±6.22Cb	210.5 ±9.11Bb	187.6 ±10.2Ab	T2	
132.9 ±0.99Aa	131.2 ±0.89Aa	132.0 ±1.1Aa	T1	Triacylglycerol (TAG)
199.2 ±2.89Cb	166.1 ±1.6Bb	140 ±3.1Ab	T2	

المعدل ± الخطاء القياسي، n = 5/مجموعة  
الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقياً تحت مستوى P<0.05  
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً تحت مستوى P<0.05

جدول(2) يبين تأثير إضافة مادة اصفر غروب الشمس إلى ماء الشرب في مستوى الشحوم البروتينية ذات ال كثافة العالية HDL-C والواطنة LCL-C والواطنة جدا VLDL-C (mg/d) في مصل دم الارانب

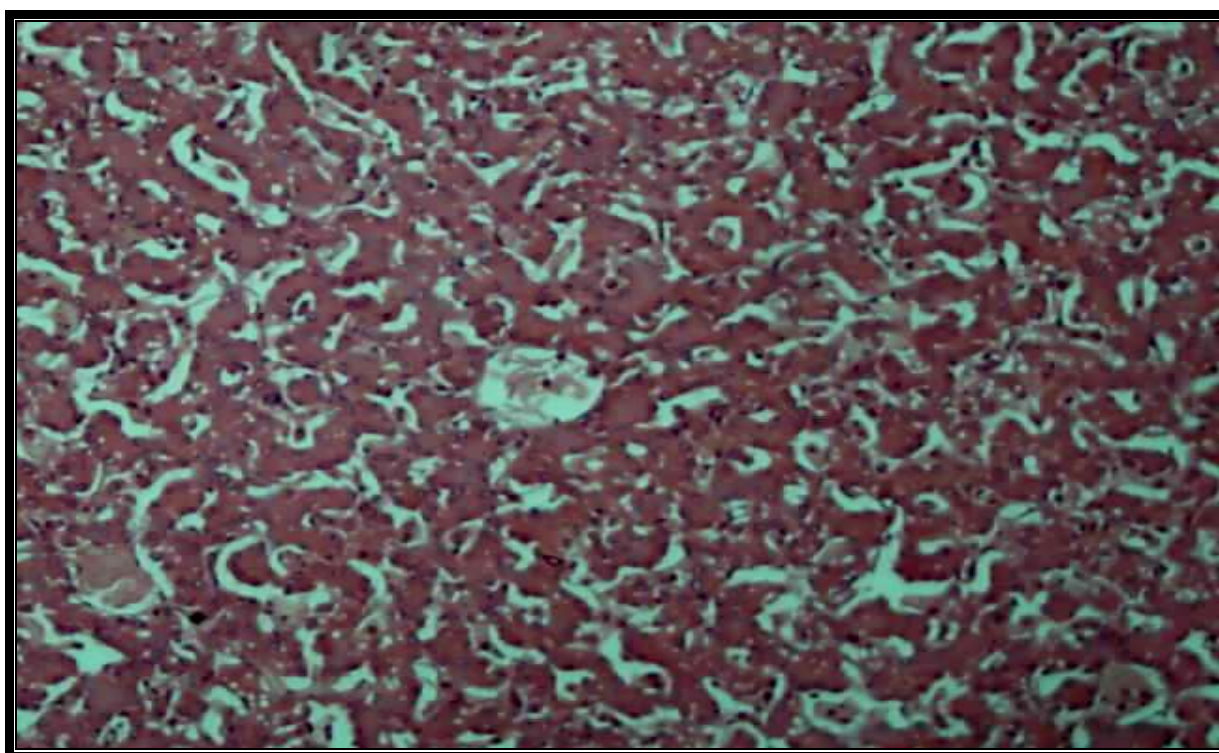
After 12weeks	After 8 weeks	After 4weeks		Time Treatment
34.0 ±0.83Aa	35.11 ±0.37Aa	34.3 ±0.66Aa	T1	HDL-C
16.6 ±1.4Cb	24.3 ±0.5Bb	26.5 ±1.2Ab	T2	
70.32 ±3.22Aa	68.45 ±1.99Aa	69.46 ±2.6Aa	T1	LDL-C
222.56 ±6.9Cb	152.4 ±9.5Bb	133.8 ±10.3Ab	T2	
410 ±12.1Aa	13.69 ±0.7Aa	13.89 ±1.6Aa	T1	VLD-C
44.5 ±4.2Cb	30.4 ±3.1Bb	26.6 ±2.6Ab	T2	

المعدل ± الخطاء القياسي، n = 5/مجموعة  
الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقياً تحت مستوى P<0.05  
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً تحت مستوى P<0.05

جدول (3) يبين تأثير إضافة مادة اصفر غروب الشمس إلى ماء الشرب في مستوى فعالية الانزيمات (AST , ALT) في مصل دم الارانب.

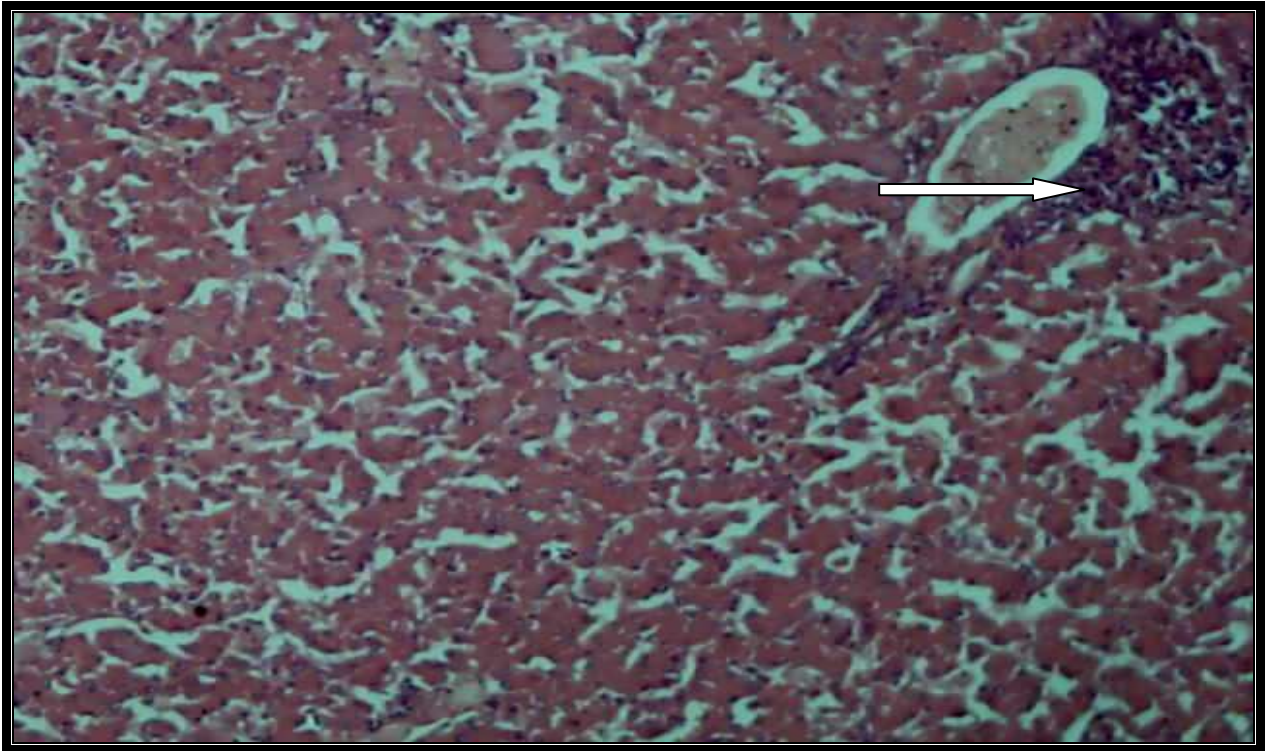
After 12weeks	After 8 weeks	After 4weeks		Time Treatment
52.5 ±0.8Aa	52.1 ±1.3Aa	51.1 ±2.0Aa	T1	ALT
71.9 ±3.2Cb	60.6 ±3.6Bb	59.9 ±4.2aA	T2	
71.9 ±0.6Aa	70.2 ±0.7Aa	71.1 ±0.8Aa	T1	AST
102.3 ±8.5Cb	96.3 ±2.6Bb	88.4 ±2.1Aa	T2	

المعدل ± الخطاء القياسي. n = 5/مجموعة  
 الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية أفقياً تحت مستوى P<0.05  
 الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً تحت مستوى P<0.05

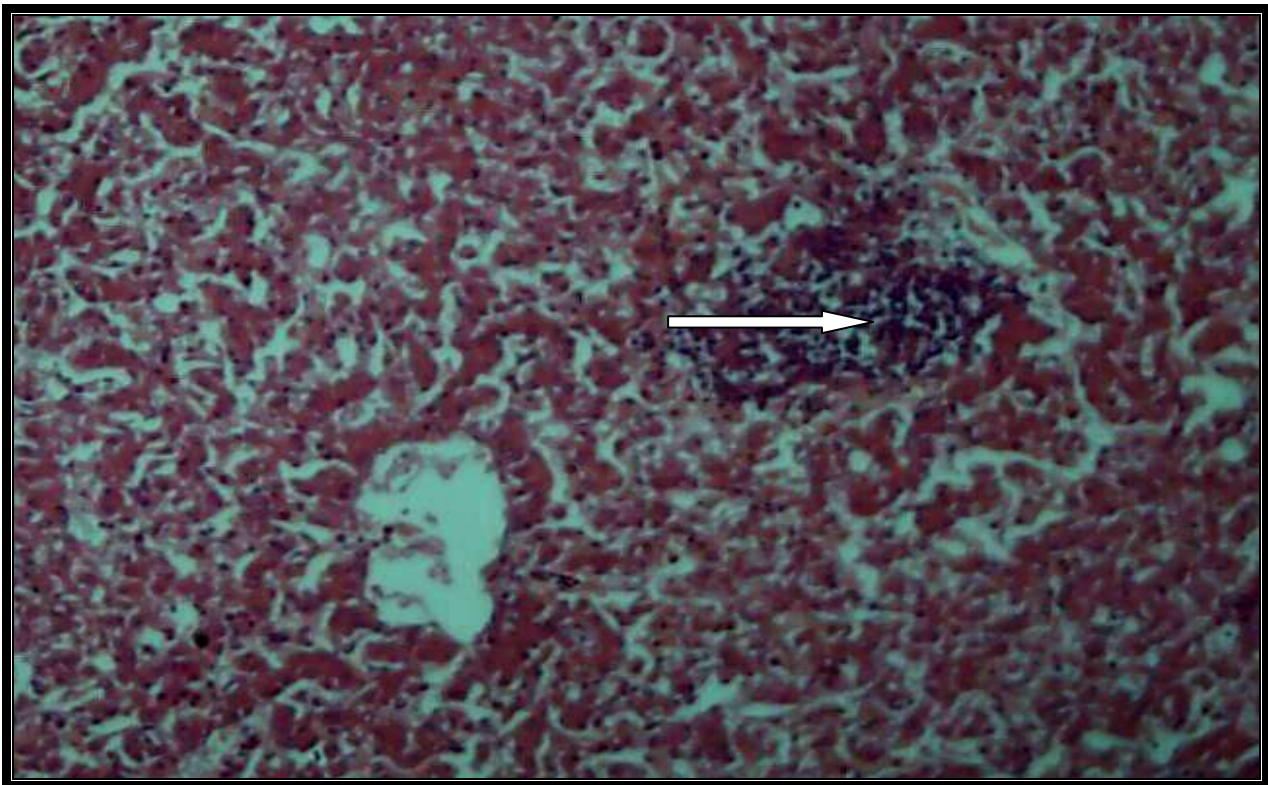


صورة (1) توضح مقطع نسيجي في كبد حيوانات السيطرة .





صورة (2) توضح ارتشاح التهابي حول الوريد المركزي في الكبد للمجموعة المعاملة .



صورة (3) توضح ارتشاح التهابي في متن الكبد للمجموعة المعاملة .

## Reference

- 1-Timothy , J; Maher J and Richard,J( 2002) Possible Neurologic Effect of Aspartame ,aWidely Used Food Additive. Environmental Health Perspective ., 75(5) :54-67
- 2- Ibrahim, A; El-Desoky, G; Ramadan, M and Elgendi, N(2004).Comparative studies on the effect of some natural and synthetic glycoce food colourants on blood glucose and liver glycogen as well as glutamine aminotransferase in rats Minia , JAgr.Res.Rev.,10(1):1659.
- 3-Mathur, N;Chaudhary,M and Shweta, G.(2005) .Sunset yellow induced changes in the profile in male albino rat. Biochem. Cell Arch.,5(2): 197-200. Lipid
- 4- National Research Council (NRC)(1994). Nutrient Requirements of poultry .6<sup>th</sup>Ed . Washington , DC.National Academy Press.
- 5- Hallagam,J.(2006) The safty and regulatory status of food , drug and aosmetics colour addatives exempt from certification ., 3(2): 141-143.
- 6- Eman ,G; Helal, S ; Zaahkouk , H. and Mekkawy , V(2000). Effect of some food colorants (synthetic and natyral products of young albino rats ., The Egyption Journal of Hospital 1(1):103-113.
- 7-AboEl- Zahab , H ; El-Khyat, Z. and Awadallah, S.(2000) Physiological effects of some synthetic food coloring addatives on rats .,Boll.Chim. Farm136(6):377-380.
- 8- Friedewald,W.;Levy , Y and Fredrickson (1972). Estimation of the concentration of low- density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge ,Clin Chem., 18:499-502.
- 9- Luna ,L.G. (1968) . Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forceinstitutes of Pathology . 3<sup>rd</sup>ed .Mc Grow-Hill Book Company . New York.
- 10- Steel ,R.and Torries, J. (1980). Principles and Procedures Statistics biometric approach ,2ed edition .Mc.Jan . 29(1):44-48
- 11-Gaunt, I; Madge ,F.; Grasso , Pand Ganolli, S.(2002) Acute (mouse and rats ) and short term (rats) toxicity studies on carmoisine . ,food cosmet. Toxicol . 5(2):179 - 181.
- 12- Pamela, C.; Richard, A.D; Enise, R. (2005). Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. Philadephia.
- 13- Sahi , A; Pan ,X ; Paul, R; Malladi ,P ; Kahli, R and Whitingto. F (2006).Roles of phosphotidylinsitol 3- kinase and osteopontin in steatosis and aminotransferase roles release by hepatocytes treated with methionine –choline deficient medium . AM. J physiol. Gastro. Intest .physiol.liver physiol. ,291(1)55-62.
- 14- Al- Bazii, W.G.(2009). Protective And Therapeutic Role Of Olive Oil And Folic Acid In Biochemical Parameters And Histological Changes In Male Rabbits Exposed Methionine Over Load ., Phd .thesis , College veterinary medicine .university of Bagdad .
- 15-Shunhe ,Y. and Nobuhiro ,S.(2006).Fatty liver and oxidative stress . J.Kantansui.,52(6):853-858.
- 16- Mori, N.H. and Hirayama,K.(2000). Long term consumption of methionine supplemented diet increase iron and lipid peroxide levels in rat liver. J Nutr ; 130:2349-2355.